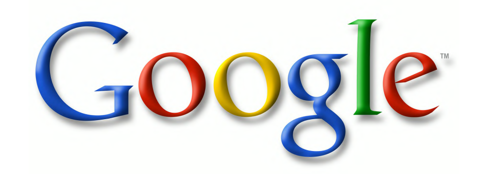

Google

Dr G. TOUJAN

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR

L'ADRÉNALINE

Crawford



TOULOUSE
IMPRIMERIE LAGARDE ET SEBILLE
2, RUE ROMIGUIÈRES, 2
—
1905

ME

LE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR

L'ADRÉNALINE

DU MÊME AUTEUR :

Contribution à l'étude de l'influence de la narcose chloroformique sur l'élimination urinaire, en collaboration avec P. Salvetat. *Archives médicales de Toulouse*, 1903.

Recherches physiologiques sur les colonies scolaires de vacances, en collaboration avec A. Mirabail. Thèse de médecine, Toulouse 1904.

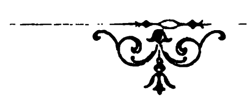
Dr G. TOUJAN

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR

L'ADRÉNALINE

Travail du Laboratoire de Physiologie de la Faculté de médecine.



TOULOUSE
IMPRIMERIE LAGARDE ET SEBILLE
2, RUE ROMIGUIÈRES, 2

1905

A LA MÉMOIRE DE MON MAITRE VÉNÉRÉ

Monsieur le professeur CHALOT

Professeur de clinique chirurgicale à la Faculté de Médecine
de Toulouse.

A la Mémoire du docteur GRACIETTE

Bibliothécaire de la Faculté de Médecine de Toulouse.

Les recherches qui font l'objet de ce travail appartiennent à une série de travaux entrepris sur l'adrénaline et les capsules surrénales par MM. les professeurs Abelous et Soulié; nos maîtres ont bien voulu nous y associer et nous les donner comme sujet de notre travail inaugural. Nous ne saurions trop leur en exprimer notre gratitude.

Dans la première partie de ce travail, nous étudierons les réactions chimiques et physiologiques de l'adrénaline, ainsi que les procédés de dosage qui peuvent être basés sur ces réactions.

Dans la deuxième partie, nous étudierons la formation de l'adrénaline dans la capsule surrénale et dans les substances médullaire et corticale. Nous terminerons en exposant une série d'expériences sur le rôle, dans l'origine de l'adrénaline, de substances contenues dans le liquide d'autodigestion pancréatique.

TABLE DES MATIÈRES

I

DOSAGES ET RÉACTIONS CHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES DE L'ADRÉNALINE

CONSTITUTION CHIMIQUE DE L'ADRÉNALINE. — RÉACTIONS.

L'adrénaline a été découverte par Takamine (**13**), en 1901 ; avant lui, Frankel (**9**), Von Furth (**9''**), Abel et Crawford (**1**), avaient isolé des substances actives sur la pression sanguine, mais dont la formule chimique variait ; c'étaient plutôt des mélanges de substances qu'un corps chimiquement défini.

L'adrénaline se présente sous la forme d'une poudre blanche micro-cristalline, cristallisant en tablettes rhomboïdales, en prismes ou en fines aiguilles.

Aldrich (**4**), a démontré que la formule de ce corps, déduite de l'analyse élémentaire, était $C^9H^{13}NO^3$. Gabriel Bertrand (**5**) a montré que cette substance était une substance unique, chimiquement définie et non un mélange et que la formule proposée par Aldrich pour en représenter la composition chimique est la seule admissible.

Deux formules de constitution ont été proposées par Pauly (**11**) et discutées ensuite par Friedmann (**9**), au moyen de l'étude des produit d'oxydation. Il adopte la première des deux formules suivantes :

(I) OH ∧ — CH(OH) — CH^2 — NH — CH^3
OH ∨

(II) OH ∧ — CH(NH — CH^3) — CH^2 — OH
OH ∨

L'adrénaline appartient à la classe des diphénols, comme le montre la coloration verte produite à son contact par Fc^2Cl^6, réaction se produisant avec la pyrocatéchine, avec laquelle elle a été longtemps confondue.

Nous avons recherché la façon de se comporter de l'adrénaline vis-à-vis d'un réactif des corps à fonction phénolique proposé par Aloy et Laprade (**3**). La solution de nitrate d'uranyle neutralisée par l'ammoniaque prend, sous l'influence de la plupart des composés possédant un groupe oxhydrile phénolique libre, une coloration rouge. L'intensité est proportionnelle au nombre d'OH libres. L'adrénaline présente cette réaction ; c'est donc un corps à fonction phénol.

L'adrénaline ne précipite par aucun des réactifs des alcaloïdes. En présence du réactif de Millon elle donne la réaction xantho-protéique. Ces réactions permettraient de rapprocher l'adrénaline des albumoses. D'après J. Noé (**10**), des recherches entreprises dans le laboratoire du professeur Pouchet, montreraient que l'adrénaline possède des propriétés intermédiaires

entre les leucomaïnes et les acides amidés ; elle se rangerait parmi les premiers produits de transformation des albuminoïdes.

Elle s'oxyde au contact de l'air et en solution diluée, présentant alors une coloration rose virant au rouge et au brun. Cette oxydation ne se produit pas en milieu acide (2 p. $^{0}/_{00}$HCl) ; par contre, elle apparait d'autant plus vite que l'alcalinité est plus forte Battelli (**7**).

Les oxydases agissent sur l'adrénaline qui se colore en rose. Gessard (**5**) a voulu attribuer cette coloration apparaissant sur la surrénale à l'action de la tyrosinase sur la tyrosine. G. Bertrand (**5**) a montré que cette coloration était due à l'oxydation de l'adrénaline et qu'elle se produisait avec la laccase.

L'oxydation de l'adrénaline se produit sous l'influence de corps tels que le brome, le chlore, l'iode, l'acide osmique, les bases, soude, potasse, ammoniaque et les carbonates alcalins.

Elle réduit, en milieu alcalin, les sels d'argent, le chlorure d'or et la liqueur cupro-potassique.

Réactions. — Elle présente trois réactions sensibles :

La réaction de Vulpian (**14**) : le perchlorure de fer produit une coloration verte due à la réduction du sel ferrique en sel ferreux, et virant au rouge par l'ébullition. D'après Rebière, l'addition prudente d'un alcali ferait virer la coloration verte au pourpre, puis au carmin. Rebière (**13**), ainsi que Fayol et Boulud (**8**), ont constaté que la réaction ne se produisait pas ou se produisait très mal si la solution était trop acide.

La réaction chromaffine produite par addition à l'adrénaline d'une chromate alcalin faisant apparaître une coloration ocre-rouge.

La réaction d'oxydation : elle peut être produite par l'addition d'une goutte de soude, par le Br. le Cl. ou l'I, l'acide osmique ou simplement l'oxydation au soleil, en vase ouvert. Ce dernier mode d'oxydation est particulièrement sensible et permet de déceler de faibles traces d'adrénaline.

Le tableau suivant permet la comparaison de la sensibilité, de la réaction de Vulpian et de la réaction d'oxydation par l'iode et par la lumière.

Un cent. cube de solution contient.	Fe^2Cl^6 donne.	IODE donne.	OXYDATION	SENSIBILITÉ
0mg,1	vert fugace en 20 sec	rose durable	rose	$\frac{1}{10.000}$
0mg,01	— en 5 sec	id.	id.	$\frac{1}{100.000}$
0.005	— — instant.	id.	id.	$\frac{1}{200.000}$
0.0025	0	rose faible	id.	$\frac{1}{400.000}$
0.001	0	0	rose faible	$\frac{1}{1.000.000}$
0.0005	0	0	0	$\frac{1}{2.000.000}$

DOSAGES CHIMIQUES

MÉTHODE DE BATELLI PAR LE CHLORURE FERRIQUE

L'étude des réactions colorées de l'adrénaline devait donner naissance a des procédés de dosage de ce corps.

En 1902, Battelli (7) propose un dosage colorimétrique de la substance active des capsules surrénales, basé sur la coloration verte produite par l'action du Fe^2Cl^6, et sur la disparition de cette teinte verte après un certain nombre de dilutions.

« On se sert, dit-il, d'une solution aqueuse de Cl_3Fe, $6H^2O$ à 15 p. 100. Cette solution est employée dans la proportion d'une goutte par chaque centimètre cube du liquide contenant la substance active.

« Supposons qu'on veuille doser la richesse en substance active d'un extrait aqueux de capsules. On prend 10 c c. de cet extrait; on en prélève 5 c. c. que l'on verse dans un tube à réaction et on y ajoute goutte à goutte de la solution de Cl^3Fe. On constate que la coloration verte est bien nette; on jette alors cette partie du liquide qu'on a additionnée de Cl_3Fe. Les autres 5 c. c.

d'extrait sont dilués avec une égale quantité d'eau de manière à faire 10 c. c. de liquide. On en prélève 5 c. c. auxquels on ajoute 5 gouttes de Cl_3Fe ; si la coloration verte est bien marquée, on jette cette partie du liquide et on dilue les autres 5 c. c. avec une égale quantité d'eau.

« On continue ainsi jusqu'à ce que la teinte verte obtenue par addition de la solution de Cl_3Fe soit très peu marquée. Ce point atteint, on ne dilue plus le liquide à moitié, mais seulement à 2/3, à 3/4, à 4/5, etc.

« Il arrive un moment où il est difficile de s'assurer si la teinte verte existe réellement, ou si l'on n'a pas affaire à la teinte jaune donnée par Cl_3Fe. En outre, lorsque les gouttes de Cl_3Fe tombent dans l'extrait très dilué, on aperçoit une teinte verte très faible qui disparaît presque immédiatement ».

C'est là, pour Battelli, le point délicat de l'opération. Pour obtenir des résultats comparables, il considère que la limite de la dilution est dépassée lorsque la teinte faiblement verte persiste moins de 4 à 5 secondes. Il appelle *dilution limite* cette dernière dilution et *unité $FeCl_3$* un centimètre cube du liquide qui possède cette dilution. Un centigramme d'adrénaline représentant 700 à 750 unités $FeCl_3$, il a donc un moyen de comparer avec cet étalon un extrait surrénal dont il a déterminé la dilution limite et peut en déduire la teneur en adrénaline.

Ce dosage a le mérite d'avoir permis des recherches impossibles jusque là et de ne nécessiter qu'un matériel facile à se procurer. Il présente cependant quelques causes d'erreur.

Fayol et Boulud (**8**) ont fait remarquer l influence,

sur la coloration verte, de l'acidité de l'extrait et de la concentration de la liqueur de $FeCl^3$. La coloration ne se produit pas dans un extrait acidifié à 2 p. 100; elle est d'autant plus fugace que la solution de $FeCl^3$ est plus concentrée.

Il est à observer cependant, que l'emploi de la même solution dans deux dosages différents permet d'éliminer cette dernière cause d'erreur et d'obtenir des résultats comparables. Il n'en est pas de même de l influence de l'acidité: nous verrons d'ailleurs plus loin son action dans un autre mode de dosage. D'autre part, l'appréciation de la teinte de la dilution limite est assez difficile et dépend de l'éclairage et de la teinte de l'écran. Le nombre des dilutions diminue d'autant la sensibilité de la méthode tout en augmentant les chances d'erreur.

DOSAGE PAR L'IODE

En étudiant les diverses réactions de l'adrénaline et particulièrement sa coloration rose en présence d'agents oxydants tels que l'Iode ou le Brome. MM. Abelous, Soulié et Toujan (**2**) ont été conduits à proposer une nouvelle méthode de dosage basée sur cette réaction.

Voici quel est le principe de ce dosage :

L'adrénaline donne, en présence de l'Iode, une coloration qui n'est pas détruite par l'hyposulfite de soude.

Nous pouvons donc déterminer la quantité d'adrénaline contenue dans une solution :

1° D'après la quantité d'Iode employée.

2° D'après l'intensité de la coloration rose.

La première méthode ne peut pas être utilisée à

cause de la faible quantité d'Iode combinée à l'adrénaline, faible quantité qui ne peut pas être mesurée rigoureusement.

Dosage colorimétrique

Nous utiliserons donc pour le dosage, l'intensité de la teinte rose produite par l'Iode, dans les extraits surrénaux.

Pour obtenir par ce moyen une méthode rigoureuse de dosage, nous devons étudier le déterminisme de la production de cette couleur, rechercher les facteurs susceptibles de la faire varier et constater un parallélisme entre son intensité et la quantité d'adrénaline mise en jeu.

Nous avons adopté, pour ces diverses recherches, une technique provisoire modifiée au fur et à mesure que l'expérience nous a montré l'influence de tel ou tel facteur.

Nous traitions 10 c. c. de la liqueur à étudier par 5 c. c. de solution d'iode à $\frac{N}{10}$: on laissait reposer 15 minutes et on éliminait l'excès d'iode par une solution d'hyposulfite de Na, en présence d'empois d'amidon ou jusqu'à disparition de la teinte jaunâtre de l'I et son remplacement par la teinte rose due à l'adrénaline. On ramenait à 50 c. c. pour rendre sa teinte comparable à celle d'une solution prise comme étalon et traitée de la même manière, en même temps et ramenée au même volume.

Les liqueurs, filtrées pour être parfaitement lim-

pides, étaient comparées au colorimètre Duboscq, disposé comme nous le dirons plus loin.

I. Non influence des substances réductrices

Expérience. — Un centimètre cube d'une solution de chlorhydrate d'adrénaline Takamine, correspondant à un milligramme de substance est ajouté :

A. à 10 c. c. d'eau distillée.
B. à 10 c. c. d'urine fraîche.

Dosage par l'iode. — Rapport colorimétrique $\frac{B}{A} = 1$.

L'intensité de coloration n'est donc pas modifiée par les substances réductrices.

II. Relation entre l'intensité de coloration et la quantité d'adrénaline

1. Expérience sur des solutions pures d'adrénaline

Au moyen d'une solution d'adrénaline Takamine à 1 p. 1000 on fait une série de dilutions correspondant à

3   2   1   0,5   0,25   0,15   0,04^{mgr} p. 10 cc.

La comparaison colorimétrique de la teinte rose obtenue par l'iode donne en prenant la solution = 1 milligr. pour étalon.

3,03   2,1   1   0,5   0,30   0,13   0,06

Les différences entre le titre calculé et le titre mesuré sont dans les limites des erreurs d'expérience.

Il y a donc proportionnalité entre la teneur en adréline de solutions pures et l'intensité de leur coloration par l'iode.

2. Expérience sur des extraits surrénaux

On pulpe 24 grammes de capsules surrénales de bœuf que l'on mélange a de la solution physiologique et à 5c. c. de $CHCl^3$ dans un flacon bien bouché. On met à l'étuve à 41° pendant 24 heures. On additionne de cinq gouttes d'HCl à 1/10 et on porte à ébullition pour précipiter les albumines. On filtre et on amène à 250c³.

On fait des solutions dans l'eau distillée correspondant à

10c.c. 5 2,5 1,5 1 c. c. d'extrait

pour 10c.c. de solution.

Le dosage par l'iode donne en prenant comme étalon l'extrait à 10c³ :

1 0,5 0,25 0,13 0,08

Il y a de nouveau proportionnalité entre la teneur d'une solution d'extrait en substance active et la teinte rose produite par l'iode.

En d'autres termes, les substances contenues dans un extrait surrénal n'entravent pas le dosage par l'iode de la substance active et ne détruisent pas le parallelisme entre l'intensité colorimétrique et la teneur en substance. Notre dosage, valable pour une solution pure, peut donc être appliqué aux solutions complexes de cette substance.

III. Influence de la durée de contact entre l'iode et la solution d'adrénaline avant le traitement par $S^2O^3Na^3$.

Expérience. — Un extrait préparé comme il est dit ci-dessus est reparti en lots de 10 centimètres cubes et traité par l'iode. On neutralise après un contact de

5 10 15 20 30 60 minutes.

Le dosage au colorimètre donne les intensités suivantes par rapport au lot : 15 minutes.

0,8	0,9	1	1	1	1

Pour une même quantité d'adrénaline, il n'y a donc pas de différence dans l'intensité colorimètrique après une durée de contact de 15 minutes et d'une heure.

IV. Influence de l'acidité sur l'intensité de coloration

Ainsi que nous l'avons vu à propos du dosage de Battelli, l'acidité des solutions joue un rôle important parmi les causes susceptibles de fausser le dosage de l'adrénaline. Nous avons constaté pour notre dosage une influence aussi considérable. L'expérience suivante le montrera :

Cinq lots égaux de 20 c.c. d'extrait surrénal sont additionnés de :

	0	1	2	4	8 gttes d'HCl à 1/10,
correspondant à	0	0c3005	0,01	0.02	0,04 c. c. d'HCl.

On traite par l'iode et en dose au colorimètre par rapport à l'extrait non acidifié. On obtient les rapports :

1	0,6	0,4	0,13	0

Il suffit donc de 0cc2 d'HCl p. 100 pour neutraliser l'action de l'iode sur l'adrénaline.

On voit donc l'importance qu'il y a : 1° à n'utiliser pour le dosage que des extraits neutres ou à peine acidulés (au maximum six gouttes d'une solution d'HCl à 1/10 pour 100 c. c. d'extrait).

2° A acidifier également deux extraits à comparer au colorimètre.

Technique. — Après avoir étudié la légitimité de ce dosage et les causes susceptibles de modifier l'action de l'iode sur l'adrénaline, nous pouvons én régler la technique :

1° Production de la teinte rose

Vérifier la neutralité ou l'égale acidité des deux solutions à comparer.

Prélever 10 ou 20c. c. de chaque solution suivant la plus ou moins grande différence probable et la teneur forte ou faible en adrénaline. Pour des solutions faibles on prélêvera 20c.c. de façon à avoir une teinte suffisamment intense.

A partir de ce point les deux solutions à comparer devront être traitées en même temps et rigoureusement dans les mêmes conditions.

Ajouter 5 centimètres cubes d'une solution d'iode $\frac{N}{10}$.

Abandonner pendant 15 minutes le mélange à la température du laboratoire.

Eliminer l'iode en excès, par une solution d'hyposulfite de Na $\frac{N}{10}$, soit en présence d'empois d'amidon, soit simplement jusqu'à disparition de la teinte jaunâtre de l'iode et l'apparition de la teinte rose. Un excès d'hyposulfite n'agit d'ailleurs en rien sur l'intensité de la teinte.

Etendre chaque solution à un même volume (50c.c.) pour diluer la couleur et obtenir deux liqueurs rigoureusement comparables. Nous avons choisi 50c.c. parce que cette quantité nous donne des teintes d'intensité moyenne.

Filtrer, s'il y a lieu, pour obtenir un liquide *parfaitement clair*. Cette précaution est indispensable pour les extraits, dans lesquels l'iode provoque un précipité. Le moindre louche entrave la comparaison colorimétrique en augmentant et en modifiant la transparence du liquide et fausse par suite les résultats.

2° Comparaison colorimétrique

Le colorimètre de Duboscq est disposé de la façon suivante pour l'utilisation de l'éclairage artificiel (La lumière de jour n'étant pas suffisamment constante et ne permettant pas des comparaisons dans des conditions suffisamment rigoureuses) :

Une plaque de verre dépoli est disposée entre le colorimètre et une lampe à gaz ; le tout étant placé dans une chambre obscure. Le miroir de l'appareil reçoit ainsi au travers du verre dépoli une lumière diffuse éclairant également les deux plages lumineuses. L'appareil est mis au point à vide pour une égalité de teinte des deux plages et sa position est soigneusement repérée dans le cas d'un déplacement possible.

On obtient de cette façon des conditions toujours identiques et des résultats parfaitement comparables à intervalles même éloignés, ce qui ne serait pas si on usait de la lumière du jour.

La comparaison au colorimètre doit être faite aussitôt ou dans un espace de temps ne dépassant pas une heure. La coloration des solutions varie en effet sous l'influence de la lumière et de l'air ; elles gardent cependant leur stabilité pendant un laps de temps (3 à 4 heures) suffisant pour les dosages.

Les liquides placés dans les godets, on fait varier l'épaisseur traversée par la lumière jusqu'à égalité de teinte. L'échelle divisée donne cette épaisseur en millimètres et dixièmes de millimètre.

L'épaisseur est en raison inverse de la couleur propre des solutions. Celle-ci étant, comme nous l'avons vu proportionnelle à la quantité d'adrénaline, l'épaisseur mesurée sera inversement proportionnelle à la teneur des solutions, et *le rapport des titres des solutions nous sera donné par le rapport inverse des épaisseurs.*

Soient e et $é$ les épaisseurs, q et q' les quantités pour $10c^3$ de solution.

$$\frac{q}{q'} = \frac{é}{e}$$

Solutions étalons. — Pour connaître la quantité d'adrénaline contenue dans une solution, il suffit de la comparer à une solution titrée d'adrénaline traitée en même temps par l'iode. Nous nous servons d'une solution au 1/10000 contenant 1 milligramme pour 10c.c. Elle doit être préparée au moment de l'emploi en diluant au 1/10, 10 c. c. de la solution d'adrénaline Takamine, au 1/1000. La quantitè q' devient ici égale à 1 et il suffit de prendre le rapport de l'épaisseur de l'étalon à celle de la solution à titrer pour obtenir le nombre de milligrammes contenus dans 10 c. c.

Etalon artificiel. — Dans certains cas, où en craindrait des variations possibles dans la solution étalon et pour comparer à de longs intervalles la teneur d'un même extrait, il est utile d'avoir un étalon coloré artificiel de même teinte que la solution d'adrénaline

à 1 milligramme p. 10. Nous avons realisé cette teinte au moyen de teinture de tournesol rougie par un acide, et comparée à la solution à 1 milligramme p. 10 jusqu'à égalité de teinte.

SENSIBILITÉ DE LA MÉTHODE. — Pour l'étudier nous avons comparé la même solution et noté les écarts existant entre les deux épaisseurs. Cet écart devait être théoriquement nul. La moyenne de ces écarts a été de $0^{mm}6$, soit pour le rapport une erreur portant sur le second chiffre décimal et au plus égale à 0,05.

RÉACTION PHYSIOLOGIQUE

Signalée par Olivier et Schœfer (**29**) en 1895, puis par Cybulski et Scymonowycz (**18**), l'action sur la circulation avait été étudiée avant l'isolement de l'adrénaline des extraits surrénaux. Elle représentait la caractéristique biologique de ces extraits. Aussi, dès la découverte de l'adrénaline et des corps qui l'ont précédée, tous les auteurs s'étaient-ils empressés d'essayer sur la pression sanguine l'action des substances nouvellement isolées ; action qu'ils considéraient comme devant appartenir à tout principe actif des capsules surrénales.

L'injection d'adrénaline à un animal provoque des phénomènes parfaitement définis.

Si on prend la pression sanguine d'un animal au moyen d'un manomètre enregistreur, on constate au moment de l'injection intra-veineuse d'une certaine quantité d'adrénaline, 0^{mgr},016 par exemple, les phénomènes suivants :

Quelques secondes après l'injection apparaît une brusque élévation de pression se traduisant sur le tracé par une ligne légèrement inclinée ; au sommet de cette

ligne s'inscrit un plateau où apparaissent de grandes oscillations cardiaques : les battements sont ralentis, mais considérablement augmentés d'énergie (Actions-puls de Cyon). La pression sanguine décroit ensuite lentement cependant que le rythme du cœur augmente et que l'énergie systolique diminue.

Nous nous trouvons donc en présence de deux phénomènes connexes :

1° Une augmentation de pression sanguine ;

2° Un ralentissement du cœur avec augmentation de l'énergie de ses contractions.

Etudions tout d'abord ce dernier phénomène. Ainsi que le dit Langlois (**25'**) si les auteurs qui ont étudié cette question ont tous constaté l'élévation de pression et le ralentissement cardiaque, l'accord cesse quand il s'agit d'interpréter ce phénomène. Nombreux sont en effet les travaux publiés sur cette question abordée par Olivier et Schaffer (**29**), Cybulski (**18**) et Scymonowycz, Velich (**31**), Fraenkel (**22**), Gottlieb (**23**), Langlois (**25'**), Cyon (**19**), Bield et Reiner (**17**), Verworn (**32**), Hans Kahn. — Nous citerons l'opinion des derniers auteurs qui ont étudié cette question : Mathieu (**26**), Neujean (**28**), Bardier et Baylac (**16**).

Si, comme l'ont fait ces auteurs, on pratique sur un animal la double vagotomie, ou si on produit la paralysie des terminaisons intra-cardiaques du vague par l'action de l'atropine, on constate que la phase de ralentissement du cœur est remplacée par une phase d'accélération du rythme.

Pour Mathieu (**26**), l'action de ralentissement serait due à l'influence de l'adrénaline sur les centres bulbaires, l'accélération après vagotomie devant être attri-

buée à une paralysie momentanée du système inhibiteur périphérique.

Pour Neujean (**28**), le ralentissement cardiaque serait dû à une action directe de l'adrénaline sur le centre modérateur cardiaque et à une action secondaire, produite par l irritation de ce centre par l'anémie cérébrale due à la vaso-constriction des vaisseaux cérébraux.

En même temps que cette accélération cardiaque chez le chien atropinisé, Bardier et Baylac (**16**) ont constaté que la paralysie par l'atropine des terminaisons du vague constituait une circonstance éminemment favorable à l'obtention d'une élévation de pression maxima : la tachycardie paraissant ajouter son action à la vaso-constriction.

Nous pouvons donc par atropinisation éliminer la participation du centre cardiaque et obtenir une courbe de pression sans phénomène surajouté.

Si nous injectons une dose faible d'adrénaline, $0^{mgr}005$, à un chien atropinisé, nous constatons une courbe d'augmentation de pression présentant des oscillations respiratoires, mais sur laquelle les grandes oscillations cardiaques sont absentes.

Quel est donc le mécanisme de cette augmentation de pression ?

Pour Olivier et Schafer, l'action porte sur le système musculaire en général et particulièrement sur le cœur et les vaisseaux artériels. La section de la moelle n'empêche pas l'élévation de pression, et la vaso-constriction constatée dans un bras au moyen du pléthysmographe n'est pas entravée par la section du plexus brachial.

Cybulski admet au contraire une action des centres vaso-moteurs bulbo-médullaires. Les auteurs qui ont étudié la question après lui, Vélich, Bield, Fraenkel et Gottlieb confirment l'opinion d'Olivier et Schafer. Gottlieb, cependant, admet une action nerveuse des ganglions du cœur et des vaisseaux.

Pour Josué (**24**), l'action des centres sympathiques doit être mise hors de cause. Le spasme vasculaire est d'origine périphérique : la vaso-constriction de l'oreille du lapin, sous l'influence de l'adrénaline, n'étant en rien entravée par l'arrachement du ganglion cervical supérieur du grand sympathique qui fournit les nerfs vaso-moteurs de cette région.

Il semble donc que l'action de l'adrénaline se produise sur la fibre musculaire lisse des vaisseaux.

Les expériences de Doyon sur les réservoirs contractiles viennent à l'appui de cette opinion. Doyon (**20**) a en effet constaté la contraction, sous l'influence de l'adrénaline, de l'intestin grêle, des muscles bronchiques, de la vésicule biliaire, du cholédoque et de l'œsophage; l'estomac tantôt se contractait, tantôt se décontractait; quant à la vessie, elle présentait une décontraction très nette, de mécanisme difficile à expliquer. Il n'en demeure pas moins établi par ces expériences que l'adrénaline agit sur la fibre lisse des réservoirs contractiles de l'organisme.

Nous pouvons donc utiliser cette propriété pour rechercher et caractériser l'adrénaline et nous adresser soit :

A la contractilité d'une paroi à fibre lisse;

A la vaso-constriction des vaisseaux d'une région;

Aux variations de pression sanguine.

Salvioli (**30**) a utilisé les deux premiers procédés dans ses recherches sur l'action de l'adrénaline.

Dans le premier cas, il étudiait la pression intérieure d'une anse intestinale isolée et distendue par une certaine quantité de liquide et dans les vaisseaux de laquelle il pratiquait une circulation artificielle de sang défibriné. Il pouvait ainsi, en additionnant d'adrénaline le liquide circulant, étudier l'action sur la fibre lisse indépendament de toute action nerveuse.

Dans le second cas, Salvioli (**30**) établissait de même une circulation artificielle dans les vaisseaux d'une portion d'intestin et étudiait le débit de la veine soit à l'état normal, soit sous l'influence de la vaso-constriction due à l'adrénaline.

Ces deux méthodes permettent, on le voit, de localiser l'action de l'adrénaline sur la fibre lisse. Elles présentent cependant, au point de vue qui nous occupe, l'inconvénient de nécessiter de trop larges lésions et de présenter une sensibilité insuffisante.

On pourrait aussi étudier les modifications du diamètre des vaisseaux observés au microscope sur la membrane interdigitale de la grenouille. La mesure, au micromètre oculaire du diamètre de ces vaisseaux, donnant l'intensité de la vaso-constriction.

Comme sur la fibre lisse, l'adrénaline agit aussi sur les chromatoblastes. M. Abelous (**15**) a montré les modifications de coloration de la grenouille sous l'influence de l'adrénaline. Il y aurait là aussi un moyen de caractériser et de mesurer peut-être la teneur en adrénaline en mesurant au micromètre les variations du diamètre de ces éléments.

Pour déceler de faibles différences dans deux ex-

traits, ces procédés ne seraient peut-être pas suffisants.

Nous devons donc nous adresser à la mesure de la pression sangine, en étudier le déterminisme de façon à l'utiliser le mieux possible et dans sa plus grande sensibilité.

Réaction sphygmogénique de l'adrénaline

Pour étudier l'action sphygmogénique de l'adrénaline et son application à un dosage, nous avons adopté la technique suivante :

Un chien de 7 à 10 kilogrammes est anesthésié par injection intra veineuse de chloralose (10 centimètres cubes par kilog. d'une solution à 8 p. 1000). Il reçoit, en outre, une injection de solution d'atropine à 1 p. 100, correspondant à 1 centigramme par 7 kilogrammes. La carotide est mise à nu et reçoit une canule, reliée par l'intermédiaire d'un tube contenant une solution anticoagulante de CO^3Na^2, à un manomètre inscripteur à mercure. Celui-ci est placé sur un support à niveau invariable situé sur le même plan que la carotide du chien. Il conserve cette position pendant toute la durée de l'expérience. Pour permettre l'inscription de plusieurs tracés, le cylindre enregistreur est placé sur un support à crémaillère permettant de l'élever à la hauteur de la plume du manomètre.

Doses moyennes. — Si à un chien de 8 kilogrammes, atropinisé pour obtenir une action maxima sur la pression (Bardier et Baylac), nous injectons par voie

veineuse une dose moyenne d'adrénaline. $0^{mgr}02$ par exemple, nous observons les phénomènes suivants :

Quelques secondes après l'injection, la pression sanguine monte rapidement d'environ 35 millimètres ; elle continue à monter plus lentement de 6 millimètres en six à huit secondes, puis lentement elle diminue, revenant à sa valeur normale, environ deux minutes après l'injection.

Nous constatons donc, dans la courbe, deux éléments :

Un élément d'augmentation de pression ;

Un élément de durée pendant laquelle cette pression a varié graduellement : croissant rapidement, décroissant très lentement.

Ce tracé peut être assimilé au tracé de contraction musculaire lisse. La fibre se contracte et se raccourcit; puis, arrivée au summum de contraction se détend lentement pendant une durée vingt fois plus longue que la durée de contraction. Nous retrouvons cette forme de tracé dans la contraction lisse de l'estomac et de l'intestin.

Doses faibles. — Si maintenant nous injectons une *dose faible*, $0^{mgr}001$. un nouvel élément intervient dans la courbe. La dose injectée produit, en six secondes, une élévation de pression faible, 10 à 12 millimètres la courbe présente un sommet arrondi, redescend pour atteindre la normale au bout de six secondes environ, passe au-dessous de la normale et donne une réaction hypotensive, d'intensité presque égale à l'élévation de pression. Elle remonte ensuite vers la normale où elle se maintient définitivement. La durée de l'action et

de la réaction sont à peu près égales, dans le cas particulier, 6 à 8 secondes. Moore et Purinton auraient, pour des doses de 0,2 millionièmes de gramme, constaté uniquement de l'hypotension.

Certains auteurs, Dubois (**21**), Metzger (**27**) en particulier ont voulu voir dans cette réaction l'indice de la présence dans les extraits d'une substance hypotensive. — Il faut plutôt y voir un phénomène de réaction du système vaso-moteur d'autant que, comme nous le verrons plus loin à propos de la répétition des doses, cette réaction diminue d'intensité pour une même dose plusieurs fois répétée : cette diminution traduisant la fatigue du système vaso-moteur et son inaptitude croissante à se décontracter.

Influence de la pression initiale.

Les phénomènes décrits ci-dessus apparaissent chez un animal n'ayant pas encore reçu d'injection et dont la pression est normale. Tout autre est la réaction si l'animal est en hypotension.

Expérience. — Un chien de 8 kilogrammes est anesthésié au chloralose et atropinisé (1 centigramme d'atropine). On enregistre la pression carotidienne, égale à 11 centimètres Hg au début de l'expérience. Après deux injections de $0^{mgr}005$ faites à intervalles assez grands la pression baisse graduellement et tombe à 6 centimètres. La réaction à une nouvelle injection de $0^{mgr}016$ d'adrénaline se produit très faiblement : la courbe s'élève lentement de 1 centimètre environ, s'abaisse aussi lentement, revient à la normale pour s'élever de nouveau à la même hauteur ; le phénomène se reproduit cinq fois de suite. Une nouvelle injection de $0^{mgr}2$ fait apparaitre une série.

d'oscillations ayant une amplitude de 12 à 15 millimètres et se succédant pendant trois minutes. Enfin, après cinq minutes de repos, une nouvelle injection de 0^{mgr} 2 ne produit qu'une série d'oscillations vaso-motrices se succédant indéfiniment.

Il semble qu'il y ait là une inaptitude du système lisse à se contracter fortement, compensée par un plus grand nombre de contractions.

Un phénomène analogue a été signalé par O. Weiss et Harris (**33**) : l'impossibilité de relever par une injection d'adrénaline la pression qui a baissé à la suite d'une série d'injections. D'après eux, la baisse peut être attribuée à trois causes : relachement des muscles vaso-moteurs par action nerveuse ; fatigue du muscle ; accoutumance.

Sensibilité de la réaction.

A quelles doses minima réagit la pression sanguine ? D'après les chiffres que nous possédons, il semble qu'une dose de 0^{mg}001 produise, chez un chien de 10 kilogrammes, atropinisé, n'ayant reçu aucune injection antérieure, une augmentation appréciable pouvant être distinguée des oscillations respiratoires, soit une sensibilité de 1/1.000.000.

Battelli (**17**), expérimentant sur des lapins atropinisés, a trouvé une sensibilité plus grande, égale à 1/8.000.000. Ces chiffres, qui semblent discordants au premier abord, deviennent comparables aux nôtres, si on remarque que les lapins à qui il injecte une solution à 1/8.000.000 pèsent 1.500 grammes, et que nous injectons à un chien de 10 kilos une solution à 1/1.000.000, soit par kilo une solution au 1/10.000.000.

Influence de la répétition des doses

Si à intervalles égaux, après la cessation de l'élévation de pression précédente, on injecte à nouveau la même quantité, on observe des phénomènes variables suivant la grandeur de la dose injectée.

Petites doses. — Les courbes, tout en présentant à peu près la même élévation de pression, ne sont plus semblables à elles-mêmes. La réaction d'hypotension, qui, dans la première injection, s'était produite égale à 12 millimètres, va diminuant à la deuxième et à la troisième injection; elle est suivie d'une élévation secondaire moins grande que l'élévation succédant à l'injection, mais plus durable.

On peut se demander s'il y a là un phénomène d'accumulation de l'adrénaline ou de fatigue du système vaso-moteur. L'accumulation ne semble pas devoir intervenir, puisque l'action sur la pression est terminée. Il faut plutôt y voir, avec Josserand (**23**), une preuve de la fatigue et de l'intoxication du cœur et aussi du système vaso-moteur.

Cette disparition de la réaction d'hypotension plaide en faveur de la non existence des substances hypotensives signalées par Dubois et Metzger.

Doses moyennes. — Pour des doses moyennes on constate, à la suite de la répétition des doses, tantôt une élévation de pression plus forte à la 2e injection, tantôt une durée plus grande de la 2e élévation de pression.

Influence du temps séparant deux injections égales

Il est possible d'obtenir une nouvelle courbe semblable à la première, à condition de laisser le système vaso-moteur au repos pendant un certain temps. Pour un chien de 8 kilos, un intervalle de cinq minutes paraît suffisant, si on a injecté des doses égales et faibles : $0^{mg}006$ à $0^{mg}001$.

Influence de la voie d'introduction

Ainsi que l'a montré Langlois, l'injection souscutanée d'adrénaline est sans action sur la pression, « soit, dit-il, que des oxydations se produisent immédiatement au contact des tissus vivants, soit que l'absorption étant très lente, la substance active arrive dans le système vasculaire en trop faibles quantités à la fois ». L'injection directe dans la veine saphène ou la veine jugulaire ne provoque pas de différences dans l'élévation de pression.

Relation entre la grandeur de la courbe et la quantité d'adrénaline

Pour résoudre cette question, voici comment nous avons procédé :

On prend la pression carotidienne d'un chien anesthésié au chloralose (10^{c3} par kilo) et atropinisé (1 centigr. par 7 kil.).

On fait à intervalles égaux des injections d'un extrait surrénal dilué, contenant $0^{mg}001$ par centimètre

cube. La durée entre chaque injection est de cinq minutes. On injecte successivement.

1	2	3	4	5 c. c.

La *hauteur* de la courbe va d'abord croissant, puis croit de moins en moins. On obtient les hauteurs suivantes (mesurée du point le plus bas des oscillations respiratoires au moment de l'injection, au point culminant du tracé).

17^{mm}	19.5	25	23	25

De ces chiffres nous pouvons déduire que, pour des doses croissantes, la hauteur n'est plus proportionnelle aux doses et qu'à mesure que les quantités augmentent son accroissement tend vers 0.

La *durée* séparant le moment de l'injection de celui du retour de la pression à la normale nous donnera peut-être une proportionnalité meilleure. La durée sera évaluée en fractions de centimètres du tracé : la vitesse de rotation du cylindre étant constante pendant l'expérience et ayant lieu en 2 minutes 30 pour 42 centimètres de longueur, soit $0^{cm}28$ par seconde.

Pour	1	2	3	4	5 c. c.

nous obtenons les durées suivantes :

30	40	102	130	150 millimètres

Il n'y a pas de proportionnalité, mais simplement, comme pour la pression, indication de doses croissantes.

Si enfin nous mesurons la *surface* comprise entre la ligne, parallèle à la ligne de 0 et tangente à la courbe, au moment de l'injection et après la cessation de l'action

sphygmogénique, nous obtenons les valeurs suivantes en millimètres carrés (La surface a été mesurée en calquant les courbes, en négligeant les oscillations respiratoires et en reportant le calque sur un papier millimétrique).

Pour	1	2	3	4[cs]
Surface en millim. carr.	300	385	1.300	1.540

Ici encore, sans qu'il y ait proportionnalité rigoureuse, il y a indication d'augmentation à mesure que croissent les doses.

Il est cependant possible de comparer par cette méthode deux extraits contenant de l'adrénaline. On injecte à intervalles égaux de cinq à six minutes des doses minimes croissantes d'adrénaline, et on calcule la teneur en adrénaline par interpolation entre deux résultats, l'un plus fort, l'autre plus faible, obtenus avec des solutions à titre connu.

La réaction sphygmogénique de l'adrénaline peut donc être utilisée pour en déceler de minimes quantités. Elle est, comme l'a démontré Battelli, plus sensible que les réactions chimiques. Mais celles-ci reprennent leurs droits quand il s'agit de dosages rigoureux. On pourra donc les utiliser parallèlement les unes et les autres ; au point de vue des recherches qualitatives très sensibles, on emploiera la réaction physiologique ; au point de vue d'un dosage rigoureux, on utilisera les dosages chimiques. L'animal est ici un réactif beaucoup plus sensible que les réactions chimiques, mais d'un déterminisme trop complexe et trop inconstant pour permettre une mesure rigoureuse.

II

FORMATION DE L'ADRÉNALINE PAR LES CAPSULES SURRÉNALES

ROLE DE LA CAPSULE ENTIÈRE

A la suite d'expériences d'ablation des capsules chez les animaux, Lewandowsky (**45**) constate qu'un lapin acapsulé présente une pression normale. Il en conclut que les capsules surrénales ne forment pas de substances vaso-motrices.

Camus et Langlois (**40**) trouvent aussi la pression normale chez les animaux acapsulés, mais n'acceptent pas l'interprétation de Lewandowsky ; pour eux, le principe actif serait déversé dans la circulation d'une façon intermittente et lorsque besoin serait.

Levin (**45**) produit l'augmentation de pression sanguine par injection du sang d'un animal acapsulé ; le sang d'un animal normal ne produisant rien. Il existerait donc dans l'organisme, des organes, autres que les capsules surrénales, produisant des substances vaso-constrictrices.

Battelli (**36-37**), en évaluant la quantité d'adréna-

line existant dans le sang d'animaux normaux et d'animaux décapsulés, remarque que le sang de ces derniers contient une quantité normale d'adrénaline : 1/5.000.000 à 1/10.000.000 quelques heures après l'opération. Au moment de la mort, elle augmente pour arriver jusqu'à 1/500.000. Le foie des animaux décapsulés contient en outre une grande quantité d'adrénaline.

Battelli tire de ces expériences les conclusions suivantes :

1° En l'absence de capsules surrénales, l'adrénaline s'accumule dans le foie d'où une partie passe dans le sang au moment où l'animal va mourir.

2° La mort à la suite de la double décapsulation n'est pas due au défaut d'adrénaline.

3° Les capsules surrénales ne font qu'accumuler l'adrénaline qui leur est apportée par le sang. Les capsules surrénales sont un réservoir d'adrénaline, elles n'en sont pas l'organe producteur.

Dans une communication suivante, Battelli (**38**) fait des réserves sur ces conclusions. Il émet une autre hypothèse : l'adrénaline se formerait dans les capsules surrénales par transformation d'une substance, protoadrénaline, produite par les muscles et les centres nerveux.

Il est à remarquer que l'existence d'adrénaline dans le sang d'animaux décapsulés s'explique parfaitement par l'existence des glandes adrénalogènes signalées par P. Mulon (**49**) et pouvant jouer un rôle de suppléance vis-à-vis des capsules surrénales disparues. Il ne s'ensuit donc pas que les surrénales ne jouent qu'un rôle de réservoir.

Les expériences suivantes entreprises en collabora-

tion avec MM. Abelous et Soulié (**34**) démontrent la formation d'adrénaline dans la glande isolée et maintenue à l'étuve.

Expérience I. — Dix grammes de capsules surrénales de mouton, entières, sont plongées dans de la solution physiologique additionnée de un gramme de chlorétone. — Mise à l'étuve 41° pendant vingt-quatre heures.

Avec dix autres grammes de capsules de mouton identiques, on fait un extrait extemporané, additionné de un gramme de chlorétone. Les albumines sont coagulées par ébullition en présence de cinq gouttes d'HCl à 1/10. On dose par l'iode l'adrénaline contenue dans cet extrait ; il y a 14^{mg}1, correspondant à 1^{mg}41 par gramme de capsule.

Le lendemain, on traite de la même façon les surrénales qui ont séjourné à l'étuve. Le dosage indique 15^{mg}4 pour l'extrait total, soit 1^{mgr} 54 par gramme de capsule.

Il y a donc eu production de 0^{mgr} 13 d'adrénaline, par les capsules maintenues à l'étuve.

Expérience II. — On plonge dans de la solution physiologique additionnée de 5c^3 de $CHCl^3$ par flacon, quatre lots de dix grammes de surrénales de mouton.

Le premier lot est traité extemporanément comme dans l'expérience I. Le dosage par l'Iode indique une teneur en adrenaline = 1^{mg} 46.

Les autres lots sont mis à l'étuve à 41° et traités respectivement au bout de 24, 48, 76 heures.

La teneur en adrénaline est : 1,96, 1,78, 1,56. mgr.

Il y a donc formation d'adrénaline pendant les vingt-quatre premières heures, puis lentement disparition de l'adrénaline formée.

Expérience III. — On pulpe des capsules surrénales de bœuf qu'on divise en deux lots égaux de trente-deux grammes. La pulpe est placée dans des flacons égaux contenant 5c³ de $CHCl^3$ et complètement remplis de solution physiologique bouillie.

Un lot est placé à la glacière, l'autre à l'étuve à 41° pendant vingt-quatre heures.

Le dosage après coagulation des albumines indique :

Pour le lot à 0° : 3mg12 d'adrénaline par gramme de capsule
— à 41° : 3mg49 — — —

L'adrénaline se forme dans les capsules, malgré la disparition de la disposition anatomique de ces organes.

Expérience IV. — On pulpe en présence de solution physiologique bouillie 46 grammes de capsules de bœuf. On centrifuge : l'extrait surnageant les culots de centrifugation est divisé en deux lots égaux de 260 c. c.; on ajoute à chacun 5 c.c. de $CHCl^3$. L'un est placé à la glacière, l'autre à l'étuve (41 degrés). Les culots de centrifugation sont de même divisés en deux lots égaux en poids, additionnés de $CHCl^3$ et placés, un à la glacière, l'autre à l'étuve.

On dose par l'Iode après coagulation des albumines et filtration.

Extrait 0° 2mg 50 d'adrénaline ..
41° 3mg 07 .... $\frac{Ex\ 0°}{Ex\ 41°} = \frac{1}{1.23}$

Culots de centrifugation .... $\frac{C^{0}}{C^{41}} = \frac{1}{1.09}$

Les substances formatrices de l'adrénaline peuvent donc agir sans intervention de la pulpe surrénale. Ces substances dyalisent en grande partie dans la solution physiologique à 7 p. 1000.

EXPÉRIENCE V. – On pulpe 90 grammes de capsules surrénales de bœuf en présence de solution physiologique. L'extrait est réparti en trois lots égaux de 100 grammes, additionnés de 5 centimètres cubes de $CHCl^3$.

Un lot est traité extemporanément par ébullition, filtré et dosé; adrénaline par gramme : 1^{mg} 30; le deuxième est placé à 0° pendant vingt-quatre heures. Adr. par gram. = 1.30; le troisième est placé à 41 degrés pendant vingt-quatre heures. Adr. par gram. = 1. 40.

La formation de l'adrénaline est donc entravée à 0 degré et et se produit à 41 degrés.

De cette série d'expériences nous pouvons donc déduire que : l'adrénaline se forme dans les capsules surrénales par l'action de substances dyalisables dans la solution physiologique NaCl à 7 p. 1000, et dont l'action entravée à 0° a lieu à 41 degrés.

ROLE DES SUBSTANCES CORTICALE ET MÉDULLAIRE

Pour élucider le rôle respectif des deux régions anatomiques de la capsule surrénale, nous devons faire appel aussi bien qu'à la physiologie, aux données anatomiques, embryologiques et histologiques. En considérant les rapports anatomiques de la médullaire et de la corticale, leur vascularisation, la façon dont elles se forment dans la série des vertébrés, nous pourrons acquérir d'utiles indications sur l'importance fonctionnelle de chacune. L'histochimie nous indiquera la répartition de certaines substances suivant la topographie des zones cellulaires, l'histophysiologie nous

montrera les modifications apportées à celles-ci par le travail physiologique. Nous étudierons enfin l'action physiologique des substances extraites de la corticale et de la médullaire et la façon dont elles se comportent *in vitro*.

Anatomie.

Les capsules surrénales présentent sur une coupe deux substances distinctes : l'une rougeâtre plus externe, la zone corticale ; l'autre centrale, blanchâtre, la zone médullaire.

Flint a mesuré chez le chien le volume de chacune de ces substances, il l'a trouvé égal, pour la corticale à $303^{mm^3}5$; pour la médullaire à $110^{mm^3}6$, soit un rapport $\frac{M}{C} = \frac{1}{2,7}$.

Cet auteur a de même mesuré le poids de chaque substance, qu'il a trouvé égal chez le chien à :

Corticale. 325 milligrammes....	$\frac{M}{C}$	$= \frac{1}{4,2}$.
Médullaire 91 —		

Nous avons mesuré le poids chez le mouton et chez le bœuf.

Mouton :	Corticale	$= 1^{mg}31$....	$\frac{M}{C}$	$= \frac{1}{3,7}$.
	Médullaire	$= 0^{mg}35$....		
Bœuf..................................			$\frac{M}{C}$	$= \frac{1}{2}$

Il y a, on le voit, des différences notables suivant l'espèce envisagée, on peut toutefois assurer que la quantité de substance corticale est toujours supérieure à celle de médullaire.

Vascularisation. — J.-M. Flint (**41**) a fait une reconstruction de la capsule surrénale au point de vue vasculaire. On constate qu'au centre de la médullaire existe une veine, non accompagnée d'une artère; les artères pénètrent dans la capsule par la surface, certaines branches s'arrêtant au niveau de la corticale, d'autres allant se ramifier dans la médullaire sans irriguer la corticale. Flint a calculé pour chaque substance le nombre de capillaires, leur surface totale et leur diamètre. Il donne les chiffres suivants, toujours pour le chien.

	Nombre de capillaires	Diamètre	Surface totale
Médullaire........	354.742	0mm007	12.650mm²
Corticale..........	3.724.933	0mm008	186.246mm²

La corticale possède donc une vascularisation dix fois plus importante que la médullaire. On peut en inférer qu'elle doit être le siège de processus cellulaires très intenses et nécessitant une circulation sanguine très active.

Développement embryologique.

Nous rappellerons brièvement le développement de la capsule surrénale, d'après les données les plus récentes, et en particulier d'après les recherches de Soulié (Thèse de doctorat es-sciences, Paris 1903) (**51**).

La substance corticale apparaît la première comme un dérivé du mésothélium et prend bientôt la forme d'un organe épithélial compact « qui ressemble à une glande close réticulée ». Les cellules sont groupées

au nombre de trois ou quatre, de façon à ce que les noyaux se disposent à la partie périphérique de l'élément qui est au contact des capillaires sanguins. Cette disposition persiste chez les batraciens et les reptiles. Chez les vertébrés à sang chaud la structure se modifie par suite du mode d'évolution particulièr à la substance médullaire.

Celle-ci se constitue au moyen d'éléments particuliers, inclus dans les ganglions sympathiques (cellules para-sympathiques) qui forment des cordons se mettant en rapport avec la substance corticale : elles ne tardent pas à se caractériser par leur affinité pour les sels de chrome. « Chez les reptiles et la plupart des batraciens, les cordons des cellules chromaffines constituant la médullaire, restent toujours accolés à la partie postérieure de la corticale. Chez les oiseaux, vers la fin de l'incubation, les cordons de cellules chromaffines qui étaient restés quelque temps annexés aux ganglions sympathiques, s'enfoncent sous forme de traînées entre les cordons de la substance corticale avec lesquels ils s'intriquent sans ordre apparent ». Chez les mammifères la substance médullaires se constitue par immigration des cellules para-sympathiques dans la substance corticale, pendant qu'au même moment se produit, chez certaines espèces, un remaniement vasculaire de tout l'organe ».

L'apparition précoce de la corticale donne à penser que cette substance, phylogéniquement la plus ancienne, doit jouer un rôle prédominant dans le fonctionnement de la glande.

Constitution histologique.

On peut considérer dans la substance corticale trois zones se succédant par une série de transitions ménagées.

a) Zone glomérulée.

b) Zone fasciculée, dont la partie la plus externe, appelée par Guieysse (43) couche spongieuse, est formée de cellules présentant des vacuoles que Mulon considère comme contenant une graisse spéciale. Le reste de la zone fasciculée présente des cellules disposées en colonnes.

c) Zone réticulée, formée de cordons de cellules enchevêtrées.

La substance médullaire est formée de cellules du type épithélio-glandulaire caractérisée par la réaction chromaffine.

Réactions histo-chimiques

Les diverses réactions colorées de l'adrénaline peuvent être constatées sur les coupes de capsule surrénale.

Vulpian (**14**) a signalé la coloration verte de la médullaire par le perchlorure de fer.

La réaction chromaffine des cellules médullaires a été identifiée par Mulon (**50**) avec celle que présente l'adrénaline au contact d'un cristal de bichromate de potasse.

L'oxydation de l'adrénaline par l'acide osmique a de même été retrouvée par ce même auteur dans les cellules de la substance médullaire. Cette oxydation se

produit sur les coupes, bien avant le noircissement de la graisse par l'acide osmique : cette rapidité d'action permet de l'en différencier.

Toutes ces réactions n'ont été constatées que sur la substance médullaire. Certains auteurs en ont conclu que l'adrénaline n'existait pas dans la substance corticale.

Fuhrmann (**42**) a constaté cependant que les cellules de la partie interne de la corticale, zone fasciculée et zone réticulée, renferment de petites granulations qui se colorent en brun dans les liquides chromiques et en gris brun dans l'acide osmique. Ce serait donc la réaction chromaffine et l'oxydation de l'adrénaline constatée dans la corticale. Nous indiquerons plus loin des réactions qui nous permettent d'affirmer l'existence d'adrénaline dans la corticale.

On a enfin mis en évidence dans la substance corticale la présence de graisses et de lécithines décelées par les réactions à l'acide osmique et signalées par Bernard et Bigart et par Mulon (**48**).

Ce dernier (**47**) a en outre étudié, dans les vaisseaux sanguins des capsules surrénales, l'excrétion de deux substances, l'une fluide, provenant des cellules avoisinant les capillaires sanguins et ayant lieu au niveau de la spongieuse, de la fasciculée et de la réticulée, l'autre se faisant par fonte cellulaire au voisinage de la médullaire et constituée par l'excrétion d'une sorte de pigment.

Histophysiologie.

Les modifications de la substance corticale sous l'influence du travail musculaire ont été étudiées par Bardier et Bonne (**35**) et par Bernard et Bigart (**39**).

Chez un animal fatigué par excitation électrique prolongée des muscles, ces derniers auteurs constatent une augmentation considérable du nombre des spongiocytes et la formation de vacuoles constituées par la même substance que celle qui remplit les spongiocytes. Les cellules de la réticulée, au contraire, manifestent une diminution d'activité par la disparition de l'ergastoplasma. La médullaire ne se modifie pas.

Bardier et Bonne (**35**) enlèvent avant la tétanisation une capsule témoin : l'animal est ensuite tétanisé pendant trois heures. Ils confirment les résultats précédents en constatant une hyperactivité de la couche spongieuse.

Etude des effets physiologiques des extraits de corticale et de médullaire

L'étude comparée des extraits de corticale et de médullaire a été quelque peu négligée par les auteurs qui presque tous ont étudié l'action de l'extrait de capsule entière.

Salvioli et Pezzolini (**52**) ont publié en 1902 un mémoire sur les différents modes d'agir des extraits cortical et médullaire.

Sur des capsules de bœuf ou de veau, ils séparaient

soigneusement les deux substances, qui étaient ensuite triturées en solution physiologique.

Ils ont constaté que l'extrait médullaire était plus toxique que l'extrait cortical.

Les deux extraits injectés de la même quantité et dans la même proportion agissent sur la pression sanguine en l'élevant, « mais l'élévation produite par l'extrait médullaire est plus grande et dure plus longtemps que celle produite par l'extrait cortical. L'extrait cortical ralentit les systoles cardiaques qui deviennent plus fortes, l'extrait médullaire, au contraire, les accélère et les affaiblit. Le ralentissement du pouls produit par l'extrait cortical est toujours transitoire, tandis que l'accélération donnée par l'extrait médullaire, de même que l'élévation de pression, disparaît graduellement ».

L'extrait médullaire agit aussi sur la respiration qui, après injection, devient plus fréquente et plus superficielle tandis que l'extrait cortical ne modifie presque aucunement le rythme respiratoire.

Après la section des vagues, une injection d'extrait cortical ne produit plus aucun ralentissement du pouls tandis qu'au contraire une injection d'extrait médullaire produit une plus grande accélération cardiaque.

Ces auteurs devaient rechercher dans d'autres expériences si le mode d'agir de ces extraits dépendait d'une nature différente de la substance active ou peut-être d'une quantité plus ou moins grande de celle ci. Nous n'avons pu retrouver, dans la littérature publiée jusqu'à ce jour, de publication relatant ces nouvelles expériences.

Nous avons, avec MM. Abelous et Soulié, repris ces

expériences sur le mode d'agir de l'extrait cortical et de l'extrait médullaire.

Sur des capsules surrénales on sépare par dissection la substance corticale de la substance médullaire. On obtient ainsi 13 grammes de corticale et 7 grammes de médullaire. Ces substances sont pulpées et placées chacune dans un flacon contenant de la solution physiologique et 5 centimètres cubes de $CHCl^3$. On met à l'étuve pendant vingt-quatre heures. On obtient ensuite un extrait limpide en traitant ces pulpes par ébullition et filtration, et en ramène au même volume : 50 centimètres cubes.

Le dosage colorimétrique par l'iode nous donne comme teneur en adrénaline :

Médullaire	32 millig.	pour	50 cc.	$\frac{\text{Corticale}}{\text{Médullaire}} = \frac{1}{3,76}$
Corticale..	8,5 —	—	—	

ÉTUDE DES TRACÉS DE PRESSION

Un chien de 7 kilogrammes est anesthésié au moyen de 70 centimètres cubes de solution de chloralose à 8 p. 1000. Il ne reçoit pas d'atropine. On enregistre la pression carotidienne.

A. — *Injection de 1 centimètre cube d'extrait cortical à* 1/100. — La pression s'élève d'environ 16 millimètres. présente un sommet, et sur la courbe de descente qui lui fait immédiatement suite s'inscrivent quelques oscillations un peu plus amples. Elle présente ensuite une réaction d'hypotension presque égale à

l'élévation de pression, et reprend ensuite sa valeur normale. Le tout a duré 40 secondes.

B. — *Injection de 1 centimètre cube d'extrait médullaire à* 1/100. — Cette injection est faite sept minutes après la cessation des effets précédents : il en sera de même pour les injections suivantes. La pression s'élève de 30 millimètres et présente un plateau où apparaissent de grandes systoles cardiaques ralenties, elle se maintient ainsi pendant une minute environ, puis les systoles cardiaques vont diminuant d'amplitude, la pression décroît lentement. Au bout de 2 m. 30 elle est revenue à la normale, le cœur étant seulement encore un peu ralenti.

La teneur différente de ces extraits en adrénaline peut-elle expliquer les différences d'action que nous constatons ?

Pour résoudre cette question, nous avons dilué l'extrait médullaire de façon à ce qu'il représente la même teneur en adrénaline que l'extrait cortical : soit 1 centimètre cube p. 376 centimètres cubes pour l'extrait médullaire, l'extrait cortical restant à 1 p. 100.

A'. — *Injection de 1 centimètre cube d'extrait cortical à* 1 p. 100. — La pression s'élève de 15 à 18 millimètres, présente un tracé absolument identique au tracé A, et de même durée (40 secondes).

B'. — *Injection de 1 centimètre cube d'extrait médullaire à* 1 p. 376. — Le tracé présente une élévation de 16 à 19 millimètres, analogue à celle de l'extrait cortical ; sur la ligne de descente apparaissent

deux oscillations cardiaques un peu plus intenses. C'est la seule différence existant entre le tracé A′ et B′, on constate la même réaction d'hypotension et la même durée (40 secondes).

Nous pouvons donc conclure que l'injection d'extrait médullaire provoque une élévation de pression plus considérable que l'extrait cortical et un ralentissement cardiaque que ne présente pas celui-ci. Cette différence n'est qu'apparente et tient à des teneurs différentes en adrénaline, puisque l'injection des deux extraits, ramenés au même titre, donne des effets identiques. Le ralentissement cardiaque est simplement dû à une plus grande quantité d'adrénaline dans l'extrait médullaire.

Répartition de l'adrénaline dans la capsule surrénale.

La constatation de la réaction de Vulpian au niveau de la médullaire, ainsi que les recherches histochimiques relatées plus haut ont conduit les auteurs à prétendre qu'il n'y avait pas d'adrénaline dans la substance corticale.

Dor a cependant montré qu'au moyen d'eau toluénée on peut extraire de l'adrénaline d'une macération de corticales. Furhmann (**42**) a constaté dans la corticale la réaction chromaffine.

Nous avons étudié avec MM. Abelous et Soulié (**34**) la répartition de l'adrénaline dans les deux substances et dans la partie la plus externe de la corticale.

Expérience. — On séparait, en les disséquant soigneusement aux ciseaux, la médullaire de la corticale. Cette séparation est facile grâce à la différence de coloration des deux substances. Après les avoir pulpées on faisait de chacune un lot qu'on mettait à macérer dans la solution physiologique bouillie additionnée de 5 c.c. $CHCl^3$. On laissait à l'étuve à 41 degrés pendant vingt-quatre heures.

Le lendemain chaque lot était traité par ébullition en présence de cinq gouttes d'HCl à 1/10. On filtrait : la pulpe était à nouveau épuisée par l'eau bouillante et pressée. L'extrait ainsi obtenu était amené au volume de 250 c.c.

Dosage de l'adrénaline par l'iode, par comparaison avec un étalon contenant un milligramme d'adrénaline par 10 c.c.

Bœuf. —	Corticale..	$0^{mg}77$	$0^{mg}65$	par gr. de substance.
	Médullaire.	$3^{mg}4$	$4^{mg}57$	— —

On peut supposer que quelques parcelles de médullaire sont restées adhérentes à la corticale et ont fourni l'adrénaline qui lui est attribuée Pour le vérifier, nous avons détaché des fragments de corticale, au moyen de sections parallèles à la surface de la capsule et n'intéressant que la partie la plus externe de la corticale. La réaction par l'iode nous a montré une couleur rose-violet décelant ainsi la présence d'adrénaline. La réaction par le perchlorure s'est de même montrée positive.

Nous constatons donc l'existence de l'adrénaline dans les deux substances composant la capsule surrénale, en faible quantité dans la corticale, en plus grande dans la médullaire.

Recherchons maintenant par la méthode déjà appliquée aux surrénales entières, dans quelle substance se produit l'adrénaline ?

EXPÉRIENCE I. — Sur des capsules de bœuf, on sépare la médullaire de la corticale. Chaque substance est pulpée et divisée en deux lots égaux.

Corticale. — Deux lots de 27 grammes mélangés à de la solution physiologique + 5 c.c. $CHCl^3$. Un lot est placé à 0 degré l'autre à l'étuve à 41 degrés pendant vingt-quatre heures.

Médullaire. — Deux lots de 13 grammes traités de la même façon.

Au bout de vingt quatre heures, on coagule les albumines par ébullition en présence de cinq gouttes d'HCl à 1/10. On filtre et les filtrats sont ramenés au même volume.

Dosage colorimétrique par l'iode

Corticale .	0°	$0^{mg}77$	par gramme	de substance
	41°	$1^{mg}04$	—	—
Médullaire.	0°	$3^{mg}4$	—	—
	41°	$3^{mg}3$	—	—

Dans les substances surrénales, placées à l'étuve, la formation d'adrénaline a donc lieu dans la corticale et non dans la médullaire.

EXPÉRIENCE II. — On pulpe de la substance corticale de capsules de bœuf : on la divise en deux lots égaux de 19 gr. 50. Les deux lots sont mélangés à de la solution physiologique et additionnés de 5 c.c. de $CHCl^3$. un lot B est mis à la glacière ; le lot A est placé à l'étuve.

Au bout de vingt-quatre heures, coagulation des albumines par ébullition en présence de cinq gouttes d'HCl à 1/10. Les filtrats sont ramenés au même volume.

Dosage par l'Iode. – Rapport colorimétrique $\frac{B}{A} = \frac{1}{1,33}$

Expérience III. — Corticale de bœuf. Deux lots de 27 grammes pulpés et mélangés à de la solution physiologique bouillie et additionnée de 5 c.c. de $CHCl^3$. L'un est placé à la glacière, l'autre à l'étuve pendant vingt-quatre heures. Coagulation des albumines comme ci-dessus.

Dosage par l'Iode. — Rapport colorimétrique $\frac{0°}{41°} = \frac{1}{1,35}$

Il y a donc dans les lots à l'étuve production d'adrénaline 1/3 plus forts environ que dans le lot à la glacière.

Expérience IV. — Pulpe de corticale de bœuf divisée en trois lots égaux de 20 grammes A B C, mélangés à de la solution physiologique et additionnés de 5 c.c. de $CHCl^3$. Le lot A est placé à la glacière, le lot B à l'étuve à 41 degrés, le lot C au bain-marie à 58 degrés.

Au bout de vingt-quatre heures on coagule les albumines par ébullition en présence de cinq gouttes d'HCl à 1/10. On filtre, la pulpe est épuisée par l'eau bouillante, puis passée à la presse et épuisée à nouveau. Les dernières gouttes des liquides d'épuisement donnent au Fe^2Cl^6 une réaction fugace et égale pour les trois lots.

Dosage par l'Iode. — Rapport colorimétrique par rapport à A pris comme étalon :

$$\frac{A\ 0°}{B\ 41°} = \frac{1}{1,60} \qquad \frac{A\ 0°}{C\ 58°} = \frac{1}{1,28}$$

Le rapport colorimétrique augmente donc jusqu'à 41° mais diminue à 58 degrés. Nous pouvons donc conclure que le maximum d'action est aux environs de 41 degrés.

La substance corticale produit donc de l'adrénaline. Cette fonction nous est démontrée par la constatation histologique et chimique de la production d'adrénaline. Nous l'avions déjà soupçonnée par l'importance fonctionnelle de cette substance, par sa vascularisation abondante et par l'étude de son développement embryologique.

III

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ORIGINE DE L'ADRÉNALINE.

ACTION DE L'EXTRAIT ALCOOLIQUE DE MACÉRATION PANCRÉATIQUE SUR LA PULPE DE SURRÉNALE.

En recherchant l'existence de l'adrénaline dans d'autres organes que les capsules surrénales, M. le professeur Abelous a constaté, par l'action de l'iode sur la macération de pancréas, l'apparition d'une coloration violette. Cette substance ainsi colorée est soluble dans l'éther et dans l'alcool amylique, ce qui permet de la distinguer de la coloration produite par l'iode en présence de l'adrénaline. Cette coloration violette caractérise le tryptophane.

L'analogie de réaction lui fit supposer que cette substance pouvait être un des corps générateurs de l'adrénaline. Nous avons donc recherché, avec MM. Abe-

lous et Soulié (**34**), l'action de la macération pancréatique sur la teneur en adrénaline des capsules surrénales.

EXPÉRIENCE I. — Une macération de pancréas de cheval dans l'eau ordinaire additionnée de 50 centimètres cubes de $CHCl^3$ est placée à l'étuve (41°) pendant 3 jours. Le liquide surnageant est décanté.

70 grammes de capsules de bœuf sont broyées et pulpées finement ; on divise cette pulpe en 2 lots égaux de 35 grammes.

Chaque lot est mélangé à de la solution physiologique bouillie et additionnée de 5 centimètres cubes de $CHCl^3$. A un des lots on ajoute 50 centimètres cubes du liquide de digestion pancréatique. Mise à l'étuve pendant 24 heures.

Le lendemain, on coagule les albumines par ébullition en présence de 6 gouttes d'HCl à 1/10.

Dosage par l'iode en prenant pour étalon le lot sans liquide d'autodigestion

Rapport colorimétrique $= \frac{1}{1.30}$

On pouvait se demander si cette augmentation n'était pas due à une action de la trypsine contenue dans la macération. Ce ferment, en digérant la pulpe, aurait permis un épuisement plus complet.

Une deuxième hypothèse pouvait mettre en cause les peptones. Pour éliminer la trypsine et les peptones nous avons traité le liquide d'autodigestion pancréatique de la façon suivante :

On décante 800 centimètres cubes de liquide de digestion pancréatique après 3 jours de séjour à l'étuve. On ajoute HCl 1/10 jusqu'à réaction amphotère. On fait bouillir et on filtre. Le filtrat est évaporé au bain marie jusqu'au 1/10 de son volume. Par refroidisse-

ment il se fait un dépôt de plaques friables. On précipite le liquide sirupeux par 5 fois son volume d'alcool à 90 degrés. On filtre : le filtrat est limpide et coloré en jaune. Au moment de l'emploi, on prélève une certaine quantité d'extrait qu'on évapore au bain-marie jusqu'à disparition de l'alcool.

EXPÉRIENCE II. — Pulpe de surrénales, on fait deux lots égaux de 23 grammes ; on ajoute à l'un d'eux le résidu de 100 centimètres cubes d'extrait alcoolique évaporé au bain-marie, et à tous deux 5 centimètres cubes $CHCl^3$ et de la solution physiologique bouillie, de façon à remplir complètement les flacons. Mise à l'étuve pennant 24 heures.

Le lendemain coagulation des albumines par ébullition en présence de 10 gouttes d'HCl à 1/10. La pulpe est épuisée par deux lavages à l'eau bouillante : les dernières gouttes du filtrat donnent par Fe^2Cl^6 une réaction fugace, mais égale pour les deux lots.

Dosage à l'iode. Comparaison colorimétrique.

$$\frac{\text{Pulpe}}{\text{Pulpe + Extrait alcoolique}} = \frac{1}{1,50}$$

La réaction d'oxydation, par une goutte de NaOH, donne une coloration plus intense pour le lot additionné d'extrait alcoolique. Il en est de même pour la réaction par Fe^2Cl^6.

L'addition du résidu d'évaporation d'extrait alcoolique de pancréas augmente donc la teneur en adrénaline de la pulpe de surrénales.

Il y a cependant lieu de se demander si dans cette expérience l'augmentation n'est pas simplement apparente et si les matières réductrices de l'extrait n'empêchent pas l'oxydation de ce lot, tandis que la

teneur en adrénaline diminuerait par oxydation dans le lot normal. Le résultat serait le même à la comparaison colorimétrique.

Pour résoudre cette question, nous avons remplacé le résidu d'extrait alcoolique par un liquide riche en matières réductrices : l'urine.

EXPÉRIENCE III. — On divise en 2 lots égaux à 5 grammes de la pulpe de surrénales de mouton : à un des lots on ajoute de l'urine fraîche additionnée de 5 centimètres cubes de $CHCl^3$; à l'autre, de la solution physiologique bouillie + 5 centimètres cubes de $CHCl^3$.

Le lendemain on coagule les albumines comme il est indiqué ci-dessus. Dosage à l'iode. La comparaison colorimétrique n'indique pas de différence entre les deux lots.

L'augmentation de teneur en adrénaline n'est donc pas due à des différences d'oxydation dans les deux lots.

Nous avons donc repris les expériences en nous servant de l'extrait alcoolique. Ces expériences faites, dans les mêmes conditions et conduites de la même façon, nous dont donné les rapports colorimétriques suivants :

Expériences..........	IV	V	VI	VII	VIII
Pulpe normale........	1	1	1	1	1
Pulpe + Ext. alcoolique	1,31	1,36	1,50	1,65	2,08

Vérification, par la réaction sphygmogénique, de l'augmentation d'adrénaline.

Une vérification restait à faire, celle de l'identité avec l'adrénaline de la substance formée, au point de vue de l'action sur la pression sanguine.

Ainsi que nous l'avons montré plus haut, si la réaction sphygmogénique de l'adrénaline ne peut être utilisée pour un dosage rigoureux, elle peut l'être du moins pour indiquer lequel des deux extraits contient le plus d'adrénaline.

Nous avons, à ce point de vue, fait un certain nombre d'expériences dont voici le résumé. La pression sanguine a été prise en suivant les précautions indiquées dans le chapitre relatif à la réaction sphygmogénique.

EXPÉRIENCE I. — Pulpe de surrénales de cheval, 53 grammes divisée en 2 lots égaux de 26 gr. 5 : A et B.

On ajoute au lot A le résidu de 100 centimètres cubes d'extrait alcoolique. Mise à l'étuve pendant 24 heures.

Coagulation des albumines comme pour les expériences précédentes.

Dosage à l'iode, rapport colorimétrique $\frac{B}{A} = \frac{1}{1,31}$

Réaction sphygmogénique. — Un chien de 13 kilos est anesthésié au moyen de 130 centimètres cubes de solution de chloralose à 8 p. mille. Il reçoit, en outre, 2 centigrammes d'atropine. On prend la pression carotidienne.

Injection par la veine saphène de 1 centimètre cube d'extrait B à 1/100 — élévation de pression = 7 cm. 7.

Injection par la veine saphène de 1 centimètre cube d'extrait A à 1/100 — élévation de pression = 8 cm. 5.

Différence en faveur de A : 8 millimètres.

EXPÉRIENCE II. — Surrénales de cheval divisées en deux lots de 51 grammes et préparées comme ci-dessus.

Résidu de 100 centimètres cubes d'extrait alcoolique ajouté à un des lots A.

Coagulation. Extraits.

Dosage à l'iode, rapport colorimétrique $\frac{B}{A} = \frac{1}{1,62}$

La réaction d'oxydation par la lessive de soude donne une coloration plus marquée pour A. Il en est de même pour la réacton par Fe^2Cl^6.

Réaction sphygmogénique. — Un chien de 7 kilogrammes est anesthésié au moyen de 70 centimètres cubes de solution de chloralose à 8 p. 1000. Il reçoit 2 centigrammes d'atropine. On prend la pression carotidienne.

Les extraits sont dilués à 1/100. On prend successivement les courbes de pression sanguine pour :

1 2 3 4 5 c. c., en faisant les injections à cinq minutes d'intervalle et en injectant tantôt l'extrait A, tantôt l'extrait B.

L'étude de l'*élévation de pression*, enregistrée sur les courbes donne les résultats suivants :

	1	2	3	4	5	centim. cubes.
Extrait B.	17	19.5	25	23	25	millimètres.
Extrait A.	20	23	31	35	27	—
Différence.	3	3,5	6	12	2	—

Il y a donc élévation de pression plus grande en faveur de l'extrait provenant de la pulpe additionnée du résidu d'extrait alcoolique.

Nous envisagerons maintenant la *durée de la réaction* (évaluée en millimètres du tracé, la vitesse du cylindre étant constante et égale à 2 millim. 8 par seconde).

	1	2	3	4	5	centim. cubes.
Extrait B.	30	40	102	130	150	millimètres.
Extrait A.	35	65	116	150	185	—
Différence.	5	25	14	20	35	

La durée de la réaction montre donc une plus grande teneur en adrénaline pour l'extrait A.

La *mesure de la surface* comprise entre la courbe d'élévation de pression et la ligne de pression avant l'injection, nous donne les résultats suivants :

	1	2	3	4	centimètres cubes.
Extrait B.	300	385	1300	1540	millim. carrés.
Extrait A.	400	711	1812	2043	—
Différence.	100	326	512	503	—

Comme pour les mesures précédentes, l'augmentation de surface est en faveur de l'extrait A.

EXPÉRIENCES III. — Surrénales de bœuf et de cheval mélangées, pulpées et divisées en deux lots de 25 grammes, A et B.

On ajoute au lot A le résidu de 50 centimètres cubes d'extrait alcoolique.

Etuve (41°) pendant vingt-quatre heures.

Coagulation comme précédemment.

Dosage à l'iode, rapport colorimétrique $\frac{B}{A} = \frac{1}{1,40}$

Réaction sphygmogénique. — Chien de 4 kilog. 700, anesthésié par 45 centimètres cubes de chloralose à 8 p. 1000; atropine : 5 milligrammes.

Pression carotidienne. Extraits dilués au 1/100.

Injection par la veine saphène de :

	0,50	1	2	3	centimètres cubes.
Extrait B.	28	44	74	69	millimètres.
Extrait A.	32	47	81	72	—
Différence.	4	3	7	3	—

Nous constatons à nouveau une plus grande action de l'extrait A.

De la série d'expériences précédentes nous pouvons déduire que l'extrait alcoolique de liquide de macéra-

tion pancréatique contient une substance susceptible d'augmenter la teneur en adrénaline d'une pulpe mélangée à elle. L'adrénaline formée présente la réaction sphygmogénique, aussi bien que l'adrénaline du lot normal.

Conditions dans lesquelles se produit l'augmentation d'adrénaline

Action de la Pulpe bouillie

EXPÉRIENCE. — De la pulpe de surrénales de cheval est bouillie et divisée en deux lots égaux de 25 grammes : A et B.

On ajoute au lot A le résidu d'évaporation de 65 centimètres cubes d'extrait alcoolique. On additionne chaque lot de 5 centimètres cubes de $CHCl^3$ et de solution physiologique bouillie de façon à remplir complètement les flacons. — Mise à l'étuve pendant 24 heures.

Coagulation des albumines par ébullition en présence de 10 gouttes d'HCl à $\frac{1}{10}$.

Dosage par l'iode $\frac{B}{A} = \frac{1}{1,40}$.

Une goutte de lessive de soude ajoutée à 10 centimètre cubes de chaque extrait donne une coloration rose plus foncée pour A. La réaction par Fe^2Cl^6 est de même plus foncée pour A.

L'augmentation se produit donc avec une pulpe portée à 100 degrés.

Action de la température

Capsules de bœuf pulpées divisées en deux lots égaux de 7 grammes : A et B. Au lot A on ajoute le résidu de 50 centimètres cubes d'extrait alcoolique. A chaque lot on ajoute aussi

5 centimètres cubes de $CHCl^3$ et de la solution physiologique bouillie pour remplir complètement.

Les deux flacons sont mis à la glacière.

Quarante-huit heures après, coagulation des albumines par ébullition en présence de 5 gouttes d'HCl $\frac{1}{10}$.

Dosage par l'iode $\frac{B}{A} = \frac{1}{1.54}$.

Par la lessive de soude et par Fe^2Cl^6, coloration plus foncée pour A.

L'augmentation d'adrénaline se produit donc aussi bien à la glacière qu'avec les lots bouillis. Nous pouvons donc éliminer toute action vitale ou zymotique.

EXPÉRIENCE. — On dessèche, à 80 degrés, 10 grammes de capsules de mouton dont on fait ensuite une décoction dans 200 centimètres cubes. d'eau. Le filtrat est divisé en deux lots égaux de 100 centimètres cubes. Au lot A on ajoute le résidu de 50 centimètres cubes d'extrait alcoolique. Dans les deux lots 5 centimètres cubes de CH l^3 et de la solution physiologique bouillie. Etuve à 41 degrés pendant 24 heures.

Le lendemain, ébullition en présence d'HCl $\frac{1}{10}$ 4 gouttes.

Dosage par l'iode, rapport colorimétrique : A = B.

EXPÉRIENCE. — 90 grammes de capsules de cheval et de bœuf mélangées sont pulpées et bouillies dans la solution physiologique. On filtre : la pulpe est exprimée à la presse et le liquide ainsi obtenu mélangé au filtrat. On divise le liquide en deux lots égaux de 125 centimètres cubes : A et B.

Lot A, 125 centimètres cubes d'extrait + résidu de 100 centimètres cubes d'extrait alcoolique + 5 centimètres cubes $CHCl^3$ + solut. physiol.

Lot B, 125 centimètres cubes d'extrait, sans extrait alcoolique + 5 centimètres cubes $CHCl^3$ + solut. physiol.

Le dosage à l'iode donne comme rapport colorimétrique $\frac{B}{A} = \frac{1}{1}$ Les réactions à la soude et au Fe^2Cl^6 donnent aussi égalité de teinte entre A et B.

Des deux expériences précédentes, nous pouvons conclure que l'augmentation d'adrénaline ne se produit plus, si on porte la capsule à 80°, ou si on utilise l'extrait sans la pulpe. — On peut donc supposer qu'il existe une substance contenue dans la capsule, détruite à 80° ou ne dyalisant pas dans la solution physiologique.

L'augmentation de richesse en adrénaline de la pulpe de capsules sous l'influence de l'extrait alcoolique de macération pancréatique, semble donc dûe à la combinaison en dehors de toute action vitale, de deux substances : l'une, contenue dans la capsule, non détruite à l'ébullition, agissant à 0°, ne dyalisant pas dans la solution physiologique et détruite par dessiccation de la capsule à 80°; l'autre, contenue dans la macération pancréatique et passant dans l'extrait alcoolique, agissant aussi à 0° et non détruite par l'ébullition.

Essai de détermination de la substance contenue dans la macération pancréatique.

Si, par réactions chimiques, nous recherchons ce que contient l'extrait alcoolique de macération pancréatique nous constatons :

a) Qu'avec le brome ou l'iode il donne une coloration violette intense, soluble dans l'éther et dans l'alcool

amylique. Cette réaction est caractéristique du tryptophane, produit de dédoublement des albuminoïdes sous l'influence de la digestion pancréatique. — Dans les dosages précédents, cette coloration n'a pu intervenir, le tryptophane se précipitant sous l'influence de l'iode et restant sur le filtre. Le liquide filtré n'abandonne aucune trace de matière colorante à l'éther ou à l'alcool amylique. —

b) Le liquide traité par le réactif de Millon donne la coloration rouge, sans précipité, caractéristique de la tyrosine.

Nous devions donc rechercher si l'augmentation était due à une de ces deux substances. Il fallait pour cela les obtenir pures et les ajouter au lieu et place de l'extrait alcoolique.

Etude de l'action de la tyrosine.

Nous avons étudié l'action de la tyrosine. Nous devons remercier M. le professeur Aloy, qui a bien voulu mettre à notre disposition la tyrosine, préparée par lui, qui a servi à cette expérience.

EXPÉRIENCE. — On pulpe 30 grammes de capsules de mouton qu'on divise en deux lots égaux de 15 grammes : A et B; les deux lots, reçoivent en outre 5 centimètres cubes de $CHCl^3$ et de la solution physiologique bouillie pour remplir complètement les flacons. — Etuve à 41 degrés.

Vingt-huit heures après, on traite par ébullition, en présence de HCl 1/10, 10 gouttes. Le liquide filtrant le dernier ne donne plus qu'une teinte fugace par Fe^2Cl^6 et égale pour les deux extraits. Le volume de ceux-ci est de 250 centimètres cubes.

Le dosage colorimétrique par l'iode ne donne pas de différences entre les deux lots. Il en est de même pour les réactions par la soude et par Fe^2Cl^6

L'augmentation n'est donc pas due à la tyrosine.

Action du tryptophane.

Le tryptophane est le corps dont nous avions fait apparaître la coloration violette en traitant l'extrait de pancréas par l'iode : c'est à ce corps que nous avions primitivement attribué l'enrichissement en adrénaline de la pulpe.

Le tryptophane est un produit de dédoublement des matières albuminoïdes sous l'influence de la digestion pancréatique.

Il a pour formule : $C^{11}H^{12}N^2O^2$.

Il possède le noyau indol des matières albuminoïdes. — Il se présente sous la forme de fines plaques blanches modérément solubles dans l'eau chaude et dans l'alcool méthylique, très solubles dans l'eau bouillante. Il fond à 252 degrés après avoir changé de coloration à 220°.

Traité avec précaution par de l'eau bromée, chlorée ou iodée, il présente une coloration rose violet, soluble dans l'éther. le chloroforme et l'alcool amylique. — Son noyau indol est mis en évidence par la réaction du pyrrol ; un copeau de pin, imprégné d'acide chlorhydrique, devient rouge en présence de tryptophane

Devant l'impossibilité de nous procurer ce produit, nous avons dû le préparer en suivant les indications de

Hopkins et Cole (**44**) qui ont fait une étude chimique de ce composé.

Le procédé indiqué par ces auteurs est basé sur l'emploi du sulfate mercurique en solution acide agissant sur le liquide de digestion pancréatique Ce réactif précipite la cystine, le tryptophane, la tyrosine et la leucine; ces deux derniers corps se dissolvent ensuite dans une solution de SO^4H^2 à 5 °/₀. Le mercure du composé mercurique de tryptophane est alors éliminé par H^2S. On reprend le liquide contenant le tryptophane qui est à nouveau précipité par SO^4Hg : on traite par H^2S. L'acide sulfurique provenant de cette décomposition est neutralisé par la baryte. — On traite alors par l'alcool à 90 degrés, le filtrat dépouillé de SO^4Ba. On concentre le liquide au bain-marie jusqu'à apparition de cristaux. Ceux-ci sont à nouveau dissous dans l'alcool et une deuxième cristallisation donne de fines plaques blanches de tryptophane. — Nous indiquons ici sommairement les stades de la préparation, on trouvera tous les détails nécessaires dans le mémoire d'Hopkins et Cole.

Le produit ainsi préparé a été mis en contact avec de la pulpe de capsules surrénales.

Expérience I. — Pulpe de capsules de bœuf divisée en deux lots égaux de 69 grammes, A et B.

Lot A, 69 grammes de pulpe + 1 gr. 50 de tryptophane + 5 c. c. de $CHCl^3$ + solution physiologique.

Lot B, 69 grammes de pulpe sans tryptophane + 5c³ de $CHCl^3$ + solution physiologique.

Pour ajouter le tryptophane, on l'a dissous dans la solution physiologique chaude. Etuve pendant vingt-quatre heures.

Le lendemain, coagulation des albumines par l'ébullition en présence de HCl 1/10, 10 gouttes. Les extraits sont filtrés et ramenés à 250 centimètres cubes. Les dernières gouttes des filtrats ne donnent par Fe^2Cl^6 qu'une réaction fugace et égale pour les deux lots.

Les réactions par l'iode, la soude et le Fe^2Cl^6, n'indiquent pas de différence sensible entre les deux lots.

EXPÉRIENCE II. — Pulpe de capsules surrénales divisée en deux lots égaux de 30 grammes. A l'un des lots, on ajoute 0 gr. 20 de tryptophane dissous dans la solution physiologique bouillante. Les deux flacons reçoivent chacun 5 c. c. $CHCl^3$ et sont complètement remplis de solution physiologique bouillie. Etuve à 41 degrés pendant vingt-quatre heures.

Les deux lots sont traités comme précédemment.

Dosage à l'iode. — L'extrait contenant le tryptophane est filtré, le filtre est enduit d'une substance violette qui est le tryptophane précipité et coloré en violet par l'iode. Le rapport colorimétrique est égal à 1.

Par la soude et par Fe^2Cl^6, on ne décèle aucune différence entre les deux extraits.

Le tryptophane contenu dans l'extrait alcoolique, ne contribue pas à l'enrichissement de la pulpe en adrénaline.

Action de l'indol.

Nous avons de même recherché l'action de l'indol.

EXPÉRIENCE. — Pulpe de surrénales, 35 grammes par lot. On ajoute à l'un des lots 0 gr. 20 d'indol. Les lots de pulpe

sont préparés comme ci-dessus. Etuve (41°) pendant vingt-quatre heures. Traitement comme ci-dessus.

La présence d'indol gêne le dosage par l'iode. — Les réactions par la soude et par Fe^2Cl^6 ne décèlent pas de différences entre les deux lots.

Des circonstances imprévues nous ont obligé à interrompre ces expériences. Nous pouvons cependant déduire des recherches précédentes les conclusions suivantes :

Il y a augmentation d'adrénaline dans les pulpes additionnées de résidu d'extrait alcoolique de liquide d'autodigestion pancréatique. La substance produisant cette augmentation est soluble dans l'alcool, elle agit en dehors de toute action vitale ou zymotique puisqu'elle n'est pas détruite à 100 degrés et qu'elle agit à la température de 0°. Elle se combine à une autre substance existant dans la capsule surrénale, — celle-ci agit aussi à 0°, n'est pas soluble dans la solution physiologique et est détruite par la dessication à 80 degrés.

La substance contenue dans l'extrait alcoolique n'est ni la tyrosine, ni le tryptophane, ni l'indol.

Une expérience faite dans les mêmes conditions que les précédentes en remplaçant l'extrait alcoolique par un extrait de pancréas ou de foie (préparé en prélevant l'organe sur un chien qui vient d'être tué et en faisant un extrait aqueux à 100 degrés) nous a donné une augmentation d'adrénaline en faveur de l'extrait de pancréas (1/1,30) ; plus faible pour l'extrait de foie.

Expériences sur la destruction de l'adrénaline

En terminant ce travail, nous relatons quelques expériences, entreprises sur la destruction de l'adrénaline en employant la même méthode que précédemment : l'étude de l'action *in vitro* des pulpes d'organes sur l'adrénaline.

La destruction de l'adrénaline par les divers organes a été étudiée par plusieurs auteurs.

Langlois et Athanasiu ont montré, par des circulations artificielles de sang adrénaliné, le rôle du foie dans la fixation et l'oxydation de l'adrénaline.

Battelli a de même montré, en même temps que l'action du foie, le rôle de l'action oxydante du sang.

Livon a vu que l'adrénaline mélangée à de la pulpe de muscles n'était détruite qu'en faible quantité.

Pour notre part, nous avons étudié l'action des pulpes de divers organes, sur la destruction de l'adrénaline

EXPÉRIENCE. — On mélange à de la solution physiologique (additionnée de 0 gr. 01 d'adrénaline et de 5 c. c. $CHCl^3$ par lot), des lots de 50 grammes de pulpe d'organes suivants : poumon, muscle, rein, foie, rate. Etuve pendant 24 heures.

Le lendemain on traite chaque lot par ébullition en présence de 6 gouttes d'HCl à 1/10. On obtient ainsi pour chaque lot un extrait limpide.

Pour obtenir un terme de comparaison, on traite extemporanément un lot de 50 grammes de pulpe de foie, auquel on a ajouté 0 gr. 01 d'adrénaline.

Le dosage par l'iode ne donne pas de teintes comparables, certains lots sont rouges, les autres sont violets.

On oxyde l'adrénaline à chaud, en présence de périodate de K. en solution saturée. On obtient ainsi une série de teintes roses dont l'intensité va croissant : foie, rate, rein, pancréas, poumon, muscle.

L'extrait muscle contient encore la moité de l'adrénaline ajoutée, soit 0 gr. 005.

Les pulpes d'organes font donc disparaître une partie de l'adrénaline mise à leur contact. La destruction est maxima pour le foie et minima pour le muscle. Ces résultats ne sont, bien entendu, valables que pour les pulpes *in vitro;* le muscle peut, dans certaines conditions biologiques, détruire plus d'adrénaline que dans les conditions ou nous nous sommes placés.

CONCLUSIONS

I. — Dosage de l'adrénaline.

1° Le dosage chimique de l'adrénaline peut être effectué rigoureusement, à $0^{mgr}05$ près, en prenant pour mesure l'intensité de la coloration rose produite par l'action oxydante de l'Iode sur cette substance ;

2° La réaction sphygmogénique doit être utilisée comme réaction qualitative très sensible (1/8.000.000). Son déterminisme trop complexe ne permet pas de baser sur elle un procédé rigoureux de dosage.

II. — Formation de l'adrénaline.

a) Contrairement aux assertions de certains auteurs, l'adrénaline se forme :

1° Dans la capsule surrénale;

2° Dans la substance corticale de cette capsule.

b) L'action physiologique différente de l'extrait cortical et de l'extrait médullaire n'est pas due à des substances différentes, mais à des différences dans les

quantités d'adrénaline existant dans la corticale et dans la médullaire.

III. — Contribution a l'origne de l'adrénaline.

Il existe, dans le liquide d'autodigestion pancréatique, une substance, soluble dans l'alcool, non détruite à 100°, agissant à 0°, qui, ajoutée à une pulpe de surrénales, produit un enrichissement de cette pulpe en adrénaline.

VI. — Destruction de l'adrénaline.

En présence de pulpes d'organes, l'adrénaline est détruite au maximum par le foie et au minimum par le muscle. Ces résultats ne s'appliquent qu'aux *pulpes* d'organes et non aux organes *in vivo*.

BIBLIOGRAPHIE

Abréviations.

BB. Comptes rendus hebdomadaires des séances de la Société de biologie de Paris.

CR. Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences de Paris.

A. Adrénaline.

Constitution chimique de l'adrénaline ; réactions ; dosages.

1. ABEL et CRAWFORD. — Bull. of the John Hopkins Hospital, juillet 1897, p. 151.
2. ABELOUS, SOULIÉ et TOUJAN. — Dosage colorimétrique par l'iode de l'adrénaline. BB. 18 février 1905.
3. ALOY et LAPRADE. — Nouveau réactif des corps à fonction phénolique. Bull. de la Société chimique de Paris, 1905, p. 261.
4. ALDRICH. — American jour. of physiol. 1901, t. V.
5. BERTRAND (G.). — Sur la composition chimique et la formule de l'adrénaline. CR. 19 septembre 1904.
6. BARDIER (E.). — L'adrénaline. Archives médicales de Toulouse, 1903.
7. BATTELLI. — BB. 1902, pp. 571, 984, 1435, 1518.
8. FAYOL et BOULUD. — BB. 14 mars 1903.

9. FRIEDMANN. — Sur l'adrénaline. Beitr. z. chem. Physiol u. Path., t. VI, 1904, pp. 92-93.

9'. FRANKEL. — Wien. med. Blatter, 1896.

9". V. FURTH. — Zeitsch. f. physiol. chemie, 1898.

10. NOÉ (G.). — Adrénaline. Archives générales de médecine, 1904.

11. PAULY. — Berichte d. deutsch. chemischen Gesellschaft, t. 36, p. 2944.

12. REBIÈRE. — Cité par G. Noé.

13. TAKAMINE. — Therapeut. Gazette, 1901.

14. VULPIAN. — CR. 29 sept. 1856.

Réaction physiologique de l'adrénaline ; réaction syphygmogénique.

15. ABELOUS (E.). — Les troubles de pigmentation de la grenouille à la suite de la destruction des capsules surrénales. BB. 1904, p. 952.

16. BARDIER et BAYLAC. — De l'action de l'adrénaline sur la pression sanguine des animaux atropinisés. BB. 1904, p. 485.

17. BATTELLI. — Comparaison entre les propriétés colorantes, toxiques et les modifications de la pression artérielle produite par la substance active des capsules surrénales. BB. 1902, p. 984.

17'. BIELD. — Gesellschaft der ärzte in Wien., 1896.

18. CYBULSKI. — Uber die Fonction der Nebennieren. Wiener. medic. Woschenschrift, 1896, p. 215.

19. CYON. — Die physiologischen Herzgifte. Pflügers Archiv., 1898, p. 97.

20. DOYON. — Action de l'A. sur différents réservoirs ou organes contractiles. BB. 1902, p. 1477.

21. DUBOIS. — Archives de physiologie, 1896, p. 412. Thèse Nancy, 1896.

22. FRAENKEL. — Die Sphymogenin. Wiener mediz. Wesch., 1896.
23. GOTTLIEB. — Uber die Wirkung der Nebennieren Extracte auf Herz. Arch. f. exp. Path. und Pharm., 1896.
23'. JOSSERAND. — Thèse Paris, 1904.
24 JOSUÉ. — La vaso-constriction déterminée par l'A n'est pas due aux centres sympathiques. BB. 1903, p. 30.
25. LANGLOIS. — Sur les fonctions des capsules surrénales. Thèse pour le doctorat ès sciences. Paris 1897. Contient la la bibliographie complète des capsules surrénales jusqu'en 1897.
26. MATHIEU (X.). — Action de l'adrénaline sur le cœur. Journal de Physiol. et Path. générales, 1904, p. 435.
27. METZGER. — Munch. mediz. Woch., mars 1902, p. 478.
28. NEUJEAN (V.). — Etudes expérimentales sur l'A. Arch. int. de Pharmacodynamie, 1904, p. 45.
29. OLIVIER et SCHAFER. — Proced. of the Physiol. Soc. of London, 10 mars 1894. Journ. of Physiol., 1894, p. 1.
30. SALVIOLI. — Du mode d'agir de l'extrait de capsules surrénales sur le tissu musculaire lisse. Arch. ital. de Biologie, 1902, p. 385.
31. VÉLICH. — Ub. die Wirkung des Nebenierensaftes auf den Blutreislauf. Wiener médiz Blätter, 1896, p. 15.
32. VERWORN. — Archiv. f. Physiol., 1903.
33. WEISS et HARRIS. — Archiv. f. die gesammte Physiol., 1904, pp. 510-514.

Formation et origine de l'adrénaline.

34. ABELOUS, SOULIÉ et TOUJAN. — Sur la formation de l'A dans les glandes surrénales. BB. 25 mars 1905, p 533.
34'. — Sur l'origine de l'A. BB. 1er avril 1905, p. 574.
35. BARDIER et BONNE. — Modifications produites dans la

structure des surrénales par la tétanisation des muscles. BB. 1903, p. 355.

36. Battelli. — Présence de l'A. dans le sang d'animaux normaux ; son dosage. BB. 1902, p. 1179.

37. — L'A. dans l'organisme d'animaux décapsulés. BB. 1902, p. 1180.

38 Battelli et Boatta. — Influence de la fatigue sur la quantité d'A. contenue dans les capsules surrénales. BB. 1902, p. 1203.

39. Bernard et Bigart. – Réactions histologiques des surrénales au surmenage musculaire. BB. 1902, p. 1400.

40. Camus et Langlois. – BB. 3 mars 1900.

41. J.-M. Flint. — The blood-vessels, angiogenesis, organogenesis, reticulum and histology of the Adrénal. The Johns Hopkins Hospital Reports, 1900, p. 153.

42. Fr. Fuhrmann. — Der feinere Bau der Nebenniere des Meerschweinchens. Zeitschf. f. wissenschf. Zoologie. Bd. 78, 1905.

43. A. Guieysse. — La capsule surrénale du cobaye (histologie et fonctionnement). Thèse médecine, Paris 1901.

44. Hopkins et Cole. — Chemistry of Proteids. Journ. of Physiology, 1902, p. 428.

45. Lewandowsky. — Zeits. f. Klin. med., 1899.

45'. Levin. -- Americ. Journ. of Physiol., 1901, VI, p. 358.

46. P Mulon. — Note sur la constitution du corps cellulaire des cellules dites spongieuses des capsules surrénales chez le cobaye. BB. 1902, p. 1310.

47. — Excrétion des capsules surrénales du cobaye dans les vaisseaux sanguins. BB. 1902, p. 1540.

48. — Note sur une action colorante de la graisse des capsules surrénales du cobaye. BB. 1903, p. 452.

49. — Spécificité de la réaction chromaffine : glandes adrénalogènes. BB. 1904, p. 113.

50. — Sur une réaction de l'A. *in vitro* : son application à l'étude des surrénales. BB. 1904, p. 115.

51. A.-H. Soulié. — Recherches sur le développement des capsules surrénales chez les Vertébrés supérieurs. Thèse pour le doctorat ès-sciences, Paris 1903. Contient la bibliographie complète jusqu'en 1903.

52. Salvioli et Pezzolini. — Sur le différent mode d'agir des extraits médullaire et cortical des capsules surrénales. Archives italiennes de biologie, 1902, p. 380.

Toulouse. — Imprimerie LAGARDE et SEBILLE, rue Romiguières, 2

